



دانشگاه علوم پزشکی

و خدمات بهداشتی درمانی بوشهر

« مدیریت پژوهشی »

عنوان طرح پژوهشی:

« تعیین شیوع کریپتوسپوریدیوم در کودکان زیر ۵ سال مبتلا به گاستروآنتریت بستری شده در
بیمارستان ۱۷ شهریور برازجان »

مجریان طرح:

افشین برازش

دکتر مرادعلی فولادوند

همکاران طرح:

دکتر بهروز نعیمی

سال ۱۳۸۹

مقدمه نویسنده:

تجارب حاصله از این پروژه و پروژه های پیشین نشان می دهد که جهت سرعت بخشیدن به روند انجام کار و ارتقاء کیفیت نتایج، ضروری است که اعتبار مورد نیاز اجرای پروپوزال های مصوب شده در شورای پژوهشی به درستی دیده شده و به موقع نیز پرداخت گردد. هماهنگی های فیما بین دانشگاه و سایر ارگان های مرتبط با پروژه نیز از جمله مواردی است که میتواند موجب کندی روند کار پروژه شود که پیشنهاد میگردد با ارگان هایی که بیشترین ارتباط را در این خصوص دارند هماهنگی هایی از قبل صورت پذیرد و حتی میتوان تفاهم نامه هایی هم تنظیم و امضاء نمود.

تقدیر و تشکر:

نویسندگان، مراتب سپاس و تشکر خود را از مدیریت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی بوشهر به خاطر تصویب و حمایت مالی از این طرح اعلام می دارند.

و با تشکر صمیمانه و قدردانی از:

- مدیریت محترم بیمارستان ۱۷ شهریور شهرستان برازجان
- بخش اطفال بیمارستان ۱۷ شهریور شهرستان برازجان

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
	فصل اول
۱	خلاصه گزارش
	فصل دوم
۲	مقدمه
۵	روش کار
۶	یافته ها
۹	بحث و نتیجه گیری
	فصل سوم
۱۵	منابع
۲۰	مقالات ارائه شده از طرح در سمینارها و کنگره ها
۲۱	مقالات ارائه شده از طرح در مجلات علمی

فهرست جداول ، اشکال و نمودار ها

عنوان	صفحه
جدول شماره ۱ - توزیع فراوانی کریپتوسپوریدیوزیس در کودکان مورد بررسی، بر حسب جنس	۶
جدول شماره ۲ - توزیع فراوانی کریپتوسپوریدیوزیس در کودکان مورد بررسی، بر حسب سن	۶
جدول شماره ۳ - توزیع فراوانی کریپتوسپوریدیوزیس در کودکان مورد بررسی، بر حسب ۰۰۰۰۰	۸

خلاصه گزارش:

مقدمه: کریپتوسپوریدیوم در کودکان، بعنوان یکی از عوامل ایجاد کننده اسهال های مداوم و حاد در طی سالهای اخیر مطرح می گردد و مطالعات انجام یافته حاکی از آن است که در کودکان زیر ۶-۵ سال، شایعتر از سایر رده های سنی است. هدف از این تحقیق، تعیین میزان شیوع کریپتوسپوریدیوم در کودکان زیر ۶ سال مبتلا به گاستروآنتریت بستری شده در بیمارستان ۱۷ شهریور برازجان از استان بوشهر، با استفاده از روش شناسایی کوپروآنتی ژنهای انگلی می باشد.

مواد و روش ها: در این مطالعه توصیفی- تحلیلی، از ۳۷۴ کودک بستری در بیمارستان ۱۷ شهریور برازجان طی ماههای مختلف سال ۱۳۸۸ نمونه مدفوع اخذ و با روش الایزا از نظر وجود کوپروآنتی ژنهای سطحی کریپتوسپوریدیوم مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج: شیوع عفونت ۱۳/۱٪ تعیین گردید. بیشترین شیوع در گروه سنی ۲-۱ سال حاصل شد و اختلاف معنی داری بین میزان عفونت و جنس بدست نیامد، هر چند که آلودگی در پسرها (۲۹ مورد) بیشتر از دخترها (۲۰ مورد) بود. آزمون آماری بین مثبت شدن آلودگی و برخی از علایم بالینی نظیر اسهال اختلاف معنی دار نشان داد و با متغیرهایی چون استفراغ، تغذیه با شیر مادر، تب و تشنج، این ارتباط معنی دار نبود. همچنین بیشترین میزان آلودگی در فصل پاییز یافت گردید.

بحث: در مطالعه حاضر میزان شیوع ۱۳/۱٪ حاصل شد که در مقایسه با مطالعات مشابهی که در نقاط مختلف کشورمان صورت گرفته است، این رقم بالاتر می باشد. اکثر مطالعات انجام یافته در زمینه شیوع این انگل در کشورمان با روشهای سنتی و ابتدایی تشخیص اوسیسیت های انگل صورت یافته است و از طرفی گرمسیری بودن و شرایط آب و هوایی شهرستان برازجان می تواند دلیلی دیگر بر بالا بودن شیوع این بیماری در افراد تحت مطالعه باشد.

نتیجه گیری: با توجه به بالا بودن میزان شیوع کریپتوسپوریدیوزیس در کودکان سنین ۲-۱ سال، لزوم آموزش های بهداشتی برای مادران این گروه سنی و نیز اقدامات مناسب تشخیصی توسط آزمایشگاههای تشخیص طبی بیشتر احساس می شود.

کلمات کلیدی: گاستروآنتریت، کودکان، کریپتوسپوریدیوم، الایزا، برازجان

مقدمه

کریپتوسپوریدیوزیس یکی از عفونت های گوارشی شایع و مشترک بین انسان و دام بوده و عامل آن تک یاخته ای کوچک از شاخه اپی کمپلکسا و زیر رده کوکسیدیا بنام کریپتوسپوریدیوم می باشد (۱). تا سال ۱۹۷۶، این تک یاخته به عنوان انگل دستگاه گوارش بسیاری از مهره داران مختلف از جمله خزندگان، پرندگان و پستانداران گزارش می گردید، اما اکنون از عوامل پاتوژن روده ای مهم در انسان به حساب می آید (۲). انگل کریپتوسپوریدیوم بصورت اجباری در حاشیه میکروویلی های دستگاه گوارش (داخل سلولی و خارج سیتوپلاسمی)، به ویژه در سلول های اپی تلیوم ناحیه ژژنوم و همچنین در ریه ها، سیستم صفراوی، پانکراس و ندول های لنفاوی زندگی می کند (۳و۴).

عفونت کریپتوسپوریدیوزیس می تواند از طریق خوردن آب و مواد غذایی آلوده به اووسیست های انگل، تنفس هوای آلوده به اووسیست و یا از طریق تماس حیوان با انسان و یا انسان با انسان صورت گیرد. همچنین انتقال از طریق خون، استفراغ و حتی واژن مادر مبتلا نیز گزارش شده است (۴).

علائم بالینی ناشی از کریپتوسپوریدیوزیس بصورت اسهال آبکی حاد و خود محدود شونده، تهوع، استفراغ، دهیدراتاسیون، دردهای شکمی و تب خفیف ظاهر می شود (۵) ولی در افرادی که اختلالات ایمنی دارند و همچنین در کودکان، موجب گاستروآنتریت شدید و مزمن می شود که ممکن است حیات بیمار را به مخاطره بیاندازد (۶و۷). اگرچه تک یاخته عمدتاً محدود به روده کوچک، معده و کولون می شود ولی می تواند کیسه صفرا و مجرای لوزالمعده را نیز گرفتار کند (۸).

آلودگی به این انگل در تمامی سنین گزارش گردیده است (از ۳ روزگی تا ۹۵ سالگی) (۴). ولی گزارشات متعدد و مطالعات انجام شده حاکی از آن است که در کودکان زیر ۵ سال، شایع تر از سایر رده های

سنی بوده، طوری که در برخی جوامع، سومین یا چهارمین عامل مولد اسهال در کودکان زیر ۵ سال محسوب می شود (۹). از دست دادن شدید مایعات بدن در نتیجه اسهال و استفراغ می تواند در بچه ها پیامدهای کشنده ای داشته باشد (۸).

این انگل دارای انتشار جهانی بوده و تاکنون از بیشتر کشورهای جهان گزارش شده است (۱۴-۱۰). میزان شیوع بیماری بر حسب سن، جنس، وضعیت سیستم ایمنی و تغذیه ای و بیماریهای عفونی زمینه ای افراد متفاوت بوده (۱۵ و ۱)، در کشورهای پیشرفته بین ۶/۰ تا ۲۰٪ و در کشورهای در حال توسعه بین ۴ تا ۳۰٪ متغیر می باشد (۱۸-۱۶).

کریپتوسپوریديوم همچنین عامل بروز اسهال در ۲۰-۱۰٪ مبتلایان به ایدز در کشورهای صنعتی می باشد که این میزان در کشورهای در حال توسعه تا ۵۰٪ هم می رسد (۱۹). مطالعات انجام یافته در ایران که اغلب بر مبنای روش رنگ آمیزی ذیل نلسون می باشند، نشان دهنده شیوع بالای انگل در کودکان زیر ۵ سال بوده و آلودگی بین ۲۷-۲٪ با این انگل را گزارش کرده اند (۲۱ و ۲۰).

اهمیت این بیماری از آن نظر است که روش تشخیص اووسیست های انگل کاملاً اختصاصی بوده و تقریباً در آزمایش های روتین آزمایشگاههای تشخیص طبی معمول نیست (۲۲). اولین موارد گزارش این عفونت، بر اساس بیوپسی و تهیه مقاطع بافتی از مخاط روده صورت می گرفت (۲۳). بعدها با ابداع روش های رنگ آمیزی ذیل نلسون اصلاح شده (اسید فاست) و به دنبال آن روش های ایمنواسی (ایمنوفلوئورسانس و الایزا)، مشخص گردید، فراوانی آن بیشتر از میزانی است که ابتدا تصور می شد. مطالعات سرواپیدمیولوژیک همچنین نشان داده است که عفونت خیلی شایع تر از آن است که با آزمایشات پارازیتولوژیک بر مبنای دیدن اووسیست های انگل گزارش می شود (۲۵ و ۲۴ و ۱۹).

نتایج تعیین وفور کریپتوسپوریديوم در اطفال زیر ۵ سال در یک منطقه، می تواند منجر به کسب اطلاعات در مورد وسعت بیماری و عوامل موثر بر آن در منطقه مذکور شده و نیز به عنوان منبعی برای برنامه ریزی جهت کنترل و پیشگیری بیماری در اختیار کارشناسان بهداشتی قرار گیرد. لذا با توجه اهمیت موضوع و عدم انجام چنین مطالعه ای در منطقه، جمعیت مورد تحقیق از کودکان زیر ۵ سال مبتلا به گاستروآنتریت بستری در بیمارستان ۱۷ شهریور برازجان انتخاب شده و مورد مطالعه قرار گرفتند.

روش کار

در این مطالعه توصیفی-تحلیلی، حجم نمونه با توجه به شیوع تقریبی ۱۰-۶٪ در منطقه و خطای ۲/۵٪ و سطح اطمینان ۹۵٪، معادل ۳۵۰ نفر محاسبه گردید. به منظور افزایش ضریب اطمینان، تعداد افراد مورد مطالعه ۳۷۴ نفر در نظر گرفته شد.

در طول سال ۱۳۸۸، از کودکان زیر ۵ سال که به دلیل گاستروآنتریت در بیمارستان ۱۷ شهریور شهرستان برازجان از استان بوشهر بستری می شدند، پس از تکمیل پرسشنامه حاوی اطلاعات ضروری در تحقیق، نمونه مدفوع اخذ و تا زمان انجام آزمایش در دمای 4°C نگهداری می گردید.

نمونه های جمع آوری شده، با استفاده از کیت تجاری Cryptosporidium Antigen ELISA Kit (Diagnostic Automation- USA) و بر طبق پروتکل سازنده کیت از نظر وجود یا عدم وجود کوپروآنتی ژن های سطحی انگلی (CSA) مورد ارزیابی قرار گرفتند. به طور خلاصه از نمونه های بیمارانی که نسبت ۱ به ۴ با بافر رقیق کننده، سوسپانسیون همگنی تهیه و به میزان ۱۰۰ μl در چاهک های میکروپلیت ۹۶ خانه ای کیت کوت شدند و پس از انکوباسیون و شستشو، معرف های (۱) و (۲) به ترتیب به هر چاهک افزوده شد و در مرحله آخر، سوبسترای کیت در هر چاهک اضافه و پس از توقف واکنش، در طول موج 450 nm و جذب زمینه ای 630 nm قرائت شد. و بر اساس دستورالعمل مربوطه، جذب نمونه های با OD بالاتر از ۰/۱۵ به عنوان مثبت و مساوی یا کوچکتر از آن، به عنوان منفی در نظر گرفته شدند.

نتایج تست به همراه اطلاعات حاصل از داده های پرسشنامه ای، به کمک نسخه ۱۵ نرم افزار آماری (Chicago, IL Inc. SPSS) و آزمون کای دو، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.